

# Apport d'outils de typage moléculaire à la compréhension de la circulation de salmonelles de l'élevage bovin au produit fini

## Contribution of molecular typing tools to the understanding of the circulation of salmonellae from the cattle farm to the final product

Y. MILLEMANN, S. BEHAR, S. GAUBERT, C. COLMIN

Unité Epidémiologie et Analyse des Risques, ENV Alfort, 94704 Maisons-Alfort Cedex

### INTRODUCTION

Les salmonelles sont le premier agent bactérien responsable de toxi-infections alimentaires en France. Ces bactéries sont responsables d'infections chez l'Homme et l'animal et sont souvent retrouvées dans les environnements d'élevage. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérotype Typhimurium est un sérotype d'une grande importance clinique et est également le plus fréquemment isolé en pathologie bovine ou dans les produits bovins. Cependant, ce sérotype ubiquiste présente une grande diversité génétique. Pour d'autres sérotypes, plus rarement isolés, les données sur la diversité sont encore rares.

L'étude de la diversité des salmonelles isolées dans des populations bovines peut être entreprise au moyen de méthodes de caractérisation génomique et permet alors d'envisager plusieurs applications. Nous avons ainsi analysé la relation entre la contamination des animaux avant abattage et la contamination du produit final, et les modalités de circulation et de persistance des salmonelles au sein d'un troupeau. Les marqueurs moléculaires utilisés permettent en effet de suivre la diffusion des souches et de préciser les sources de contamination des animaux et/ou des carcasses et de suivre précisément les chemins de contamination au sein des troupeaux.

### 1. MATERIEL ET METHODES

Dans une première expérimentation, nous avons caractérisé, avec différents marqueurs moléculaires, 85 souches de *Salmonella* Typhimurium isolées des bovins, de leur environnement et du produit final (viande hachée), à différents stades durant le transport entre l'élevage et l'abattoir, et sur la chaîne d'abattage (Puyalto et al, 1997). Dans la seconde expérimentation, ont été caractérisées 128 souches de *Salmonella* isolées de vaches laitières et de leur environnement, dans le cadre d'un suivi de troupeau, pendant trois années consécutives (Marly et al, 1997). Nous avons caractérisé les souches au moyen de 5 marqueurs rapides utilisant la PCR : un nouveau marqueur moléculaire, l'IS200-PCR que nous avons développé, mais aussi RAPD, ERIC-PCR et PCR-ribotypie. Pour une des collections, une comparaison a été conduite avec les résultats obtenus avec une méthode de référence (la ribotypie, conduite avec quatre endonucléases différentes).

Dans les deux études, l'analyse des données, par classification ascendante hiérarchique, a permis d'en déduire la construction d'un dendrogramme et de proposer des hypothèses épidémi-

logiques sur la circulation et la persistance des salmonelles dans un élevage bovin, au cours du transport, ou à l'abattoir.

### 2. RESULTATS

Parmi les 85 souches de *Salmonella* Typhimurium isolées de la ferme à l'abattoir et partageant un même antibiotype, 5 PCR-types et 5 ribotypes ont été mis en évidence, qui donnaient lieu strictement à la même discrimination. Cinq souches étaient ainsi séparées, dont 2 avaient les mêmes profils. Les 80 autres isolats ne pouvaient être distingués au moyen des méthodes employées. Parmi ceux-ci figuraient 5 souches isolées du steak haché, l'isolat retrouvé sur la vache excrétrice au début de l'enquête, et des salmonelles isolées sur les 9 autres animaux – initialement non excréteurs – et dans leur environnement. Ce résultat suggérait la contamination de l'ensemble des animaux par la vache excrétrice au cours du transport de la ferme à l'abattoir.

Cinq PCR-types ont été définis au sein des 128 souches isolées dans le cadre du suivi de troupeau. Deux clones majoritaires (génétiquement proches) étaient communs au troupeau de vaches et au troupeau de génisses, tandis que 2 autres souches circulaient seulement dans le troupeau de vaches et 1 autre clone uniquement dans le troupeau de génisses. De plus, au cours du temps, un même animal pouvait héberger jusqu'à 3 clones différents consécutivement.

### 3. CONCLUSIONS

Les résultats obtenus soulignent la diversité génétique des souches au sein d'un même sérotype et isolées d'un même environnement. Les méthodes d'exploration de la diversité permettent :

- 1/ de mettre objectivement en évidence un point critique de la filière viande bovine : le transport des bovins à l'abattoir, au cours duquel un seul animal excréteur contamine les autres animaux
- 2/ de démontrer le passage d'une salmonelle de l'élevage jusqu'à la viande hachée
- 3/ de préciser les chemins de contamination des salmonelles au sein d'un élevage, entre troupeau de génisses de renouvellement et troupeau de vaches.

Marly et al (1997) Symposium Salmonella and Salmonellosis '97, Ploufragan, 391-392.

Puyalto et al (1997) Veterinary Research 28 :449-460